

Néhány talaj szerves anyagának aminosav-összetétele

FILEP GYÖRGY és TATÁR LÁSZLÓ

*Agrártudományi Egyetem, Debrecen és
Agrotechnikai Kutató Intézet, Nyíregyháza*

A talajok N-tartalmú vegyületeinek jelentős csoportját alkotják az aminosavak, melyek mennyisége feltehetően szoros összefüggésben van a talaj kémiai, biokémiai és biológiai állapotával.

Az aminosavak — mint ismeretes — egyrészt *szabad* állapotban, másrészt fehérjékben, vagy peptidekben (*kötött* formában) fordulnak elő a talajban is. Bár a szabad aminosavak jelenlétét már mintegy 30 éve bizonyították, részletesebb mennyiségi adatokat csak az utóbbi időben megjelent munkákban találtunk. Ez ideig 15—19 féle szabad aminosavat azonosítottak a talajok felső rétegében, s egy-egy aminosav maximális mennyiségét PAUL és SCHMIDT [11] 2—4 mg/kg-nak, MAZUR és SZMIRNOV [8] 9,1 mg/kg-nak, UMAROV és ASZEJEVA [17] pedig 10,9 mg/kg-nak találták. Több kutató [1, 2, 9, 12, 13, 14, 16] vizsgálta a hidrolizált talajminták aminosav-tartalmát is. BREMNER [1] félkvantitatív értékelése szerint a talajhidrolizátumban 14 aminosav szerepel a legnagyobb mennyiségben.

A talajok aminosav-összetételének tanulmányozását az analitikai módszerek fejlődése, s a fehérjékre és peptidekre kidolgozott eljárások talajra történő alkalmazása tette lehetővé.

Az aminosavanalízis talajtani alkalmazásának egyik alapvető problémája a vizsgálandó anyag kinyerése a talajból. A *szabad* aminosavak kivonására mind ez ideig nincs egyértelműen elfogadott módszer. GILBERT és ALTMAN [4] a 20%-os etil-alkoholos extrakciót tartják legalkalmasabbnak. PAUL és SCHMIDT [10, 11] azonban úgy találták, hogy az aminosavak legtöbbször a víz hatásosabban oldja az etil-alkoholnál, a bázikus aminosavakat viszont 0,5 N ammónium-hidroxiddal lehet megfelelően kinyerni. GROV és ALVSAKER [5, 6] éterrel és vízzel kezelték a talajt, SOWDEN és IVARSON [15] pedig a vizes talajszuszpenzióból extrahálták az aminosavakat, 5% acetilacetont tartalmazó széntetraklorid alkalmazásával. A *kötött* aminosavak mobilizálásához egyértelműen célravezetőnek látszanak a fehérjehidrolízis módszerei. A hidrolízishez a kutatók többsége 6 N HCl-t használ, a hidrolízis időtartama és hőmérséklete tekintetében azonban nem egységesek a vélemények.

Igen fontos továbbá az aminosavelegek alkotóinak megfelelő mértékű szétválasztása és azonosítása is, mely ez idő szerint legkönnyebben a papírkromatográfia, vagy az ioncserés kromatográfia különböző módoszatainak alkalmazásával valósítható meg. (Az automatikus aminosav-analizátorok használata napjainkban még nem általános.)

A fentiekből kiindulva, munkánk során egyrészt megfelelő vizsgálati módszerek keresésére, másrészt néhány hazai talaj aminosav-tartalmának megismerésére törekedtünk.

Anyag és módszer

Mivel a hivatkozott közlemények vagy a szabad, vagy a hidrolizátumban mérhető aminosavak meghatározását tűzik ki célul, indokoltnak látszott, hogy a kutatásokat a két csoport együttes vizsgálatára és értékelésére is kiterjesszük.

Vizsgálatainkhoz az alábbi négy talajtípus két-két felső szintjét választottuk: közepes humuszos-rétegű, típusos *régi* talaj (0–20 és 20–45 cm), közepes *régi szolonyec* (0–11 és 11–40 cm), karbonátos *régi csernozjom* (0–20 és 20–40 cm), valamint alföldi *mészlepedékes csernozjom* talaj (0–20 és 20–45 cm).

A szokásosan előkészített légszáraz mintákból mindenekelőtt elvégeztük az általános jellemzők vizsgálatát, s meghatároztuk a talajok össz. N-tartalmát.

A *szabad aminosavakat*, kevés módosítással, a GILBERT és ALTMANN [4] által ajánlott *etil-alkoholos módszerrel* oldottuk ki a talajból. *Eljárás:* 75 g (gyökérmaradványoktól mentes) légszáraz talajhoz 150 ml 20%-os etil-alkoholt adunk, jól elkeverjük, majd — időnként többször rázogatva — mintegy 18 óra hosszat állni hagyjuk. Ezután centrifugálással (vagy redős szűrőn szűrve) elkülönítjük az alkoholos oldatot, a visszamaradt talajt pedig kb. 50 ml-nyi 20%-os etil-alkohollal és 30–40 ml desztillált vízzel átmoszuk. Az egyesített szűrletet vákuumban, vagy 45 °C-ú vízfürdőn szárazra pároljuk.

A szárazmaradékot 10 ml-nyi alkoholos deszt. vízben felvesszük, s kationcserélő oszlopra víve sómentesítjük. A *kivonat sótelenítése:* 20 cm hosszú és 2,2 cm Ø-jű kromatográfiás csőben, duzzasztott Dowex 50 gyantából, 16 cm magas kationcserélő oszlopot készítünk. A gyantaoszlopot 2 N HCl-dal H-formára alakítjuk, majd desztillált vízzel savmentesre mossuk. Az így előkészített oszlopra folyamatosan rávisszük a 10 ml-nyi alkoholos aminosavoldatot úgy, hogy a gyantafázis fölött állandóan 2 cm magas folyadékréteg legyen. A kationcserélő az aminosavakat és a kationokat megköti; az anionokat és a nem ionos vegyületeket pedig kb. 50 ml desztillált vízzel kimossuk az oszlopból. A deszt. vizes átmosás után az aminosavakat 200 ml 2 N ammónium-hidroxid átáramoltatásával eluáljuk. Átfolyási sebesség: 0,1 ml/cm²/perc.

Az aminosavak tökéletes leoldását kromatografáló papíron, ninhidrinnel ellenőrizzük.

A zavaró anyagoktól mentesített eluátumot ezután 45 °C-os vízfürdőn — ventilláció alkalmazása mellett — szárazra pároljuk. Az ammóniummentes bepárlási maradékot végül 2 ml 10%-os izopropil-alkohollal felvesszük, s vizsgálatig hűtőszekrényben tároljuk.

Az „összes” *aminosavtartalom kivonása:* 5 g légszáraz (gyökérmaradványoktól megtisztított) talajhoz 130 ml 6 N HCl-et adva, 60 °C-on 24 óráig hidrolizáljuk. A lehűlt szuszpenziót centrifugáljuk, a maradékot pedig meleg (40–50 °C-ú) desztillált vízzel savmentesre mossuk. Az egyesített kivonatrészleteket 45 °C-ú vízfürdőn szárazra pároljuk, majd a visszamaradt anyagot desztillált vízzel felvesszük, s ismét bepároljuk. Ezt a műveletet megegyezően megismételjük, s végül 10 ml 0,5 N HCl-al a maradékot feloldjuk. Az oldat kationcserélőn végzett sómentesítése után, az oszlopról eluált aminosavoldatot bepároljuk, s a maradékot 4 ml 10%-os izopropil-alkohollal felvesszük.

Az aminosavak elválasztására a papírkromatográfia általunk kidolgozott két változatát [3] használtuk.

a) *Papírkromatográfias eljárás.* A szabad aminosavak izopropil-alkoholos oldatából — a talaj szervesanyag-tartalmától függően — 200–400 μ l-t (7,5–15 g talajnak megfelelő kivonat), a hidrolizált mintákból pedig 150–200 μ l-t (0,1875–0,25 g talaj) 22 cm hosszú Schleicher-Schüll 2043a papíron futtatunk leszálló rendszerben. Először n-butyl-alkohol—ecetsav—víz, 15 : 3 : 7 arányú elegyével (másfélszer) szakaszos futtatást végzünk úgy, hogy az első teljes futtatásnál mintegy 1,5 órai túlfuttatást alkalmazunk. Ezután a fenti oldószerek 4 : 1 : 5 arányú elegyének szerves fázisával (Partridge-elegy) ismét másfélszer futtatva, a kromatogramot friss kadmiosos ninhidrin oldattal előhívjuk (0,5 liter aceton + 0,5 g ninhidrin + 0,25 g CdCl_2). A papírt minden egyes futtatás után megszáritjuk.

b) *Elektroforézissel kombinált papírkromatográfia.* Az egydimenziós papírkromatogramokon a közel azonos futási távolságú aminosavak foltjait nehezen, vagy egyáltalán nem lehet elkülöníteni, ezért megkíséreltük a papírkromatográfias eljárást elektroforézissel kombinálni.

A papírelektroforézist, az előzőekben használt kromatografáló papírral, LABOR OE 201 típusú horizontális készüléken végeztük. Futtatószer: 6,5 pH-jú piridin—ecetsav—víz puffer (100 ml piridin + 4 ml ecetsav elegyét vízzel 1 literre kiegészítjük). Feszültség: 600 V, futtatási idő: 1,5 óra. A második dimenzióban ezután kétszer futtatunk Partridge-eleggyel, leszálló rendszerben.

Az aminosav foltot, a mintákkal együtt kromatografált, standard aminosavegyek (St_1 és St_2) segítségével azonosítottuk.

A mennyiségi meghatározásához, a foltok kivágása és aprítása után, rézszulfáttal telített 70%-os etil-alkohollal külön-külön oldottuk le az aminosavakat, majd Spekol-fotométeren 530 nm hullámhosszúságnál fotometráltuk) a kromatográfias papírból kioldott vakpróbával (háttér) szemben. A mennyiségi kiértékelés — a vizsgált aminosavak mindegyikére elkészített — kalibrációs görbe segítségével történt.

A mérőegyes felvételéhez a standard oldatban szereplő aminosavak 0,1 μ mol mennyiségét együttesen oldjuk 50 ml-re, s ebből 20, 40, 60, 80, 100 μ l-t a vizsgálandó mintákkal azonos körülmények között futtatunk és mérünk.

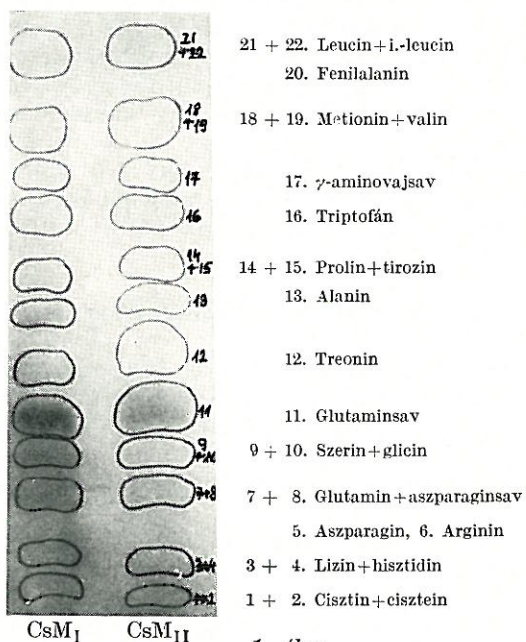
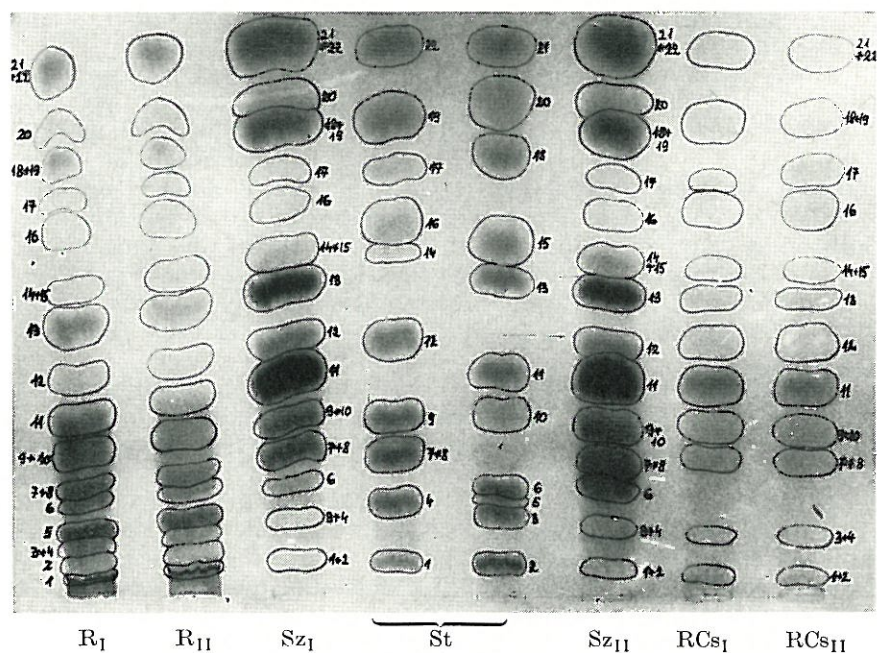
Eredmények és következtetések

A talajminták általános jellemzőit és össz.-N tartalmát az 1. táblázatban közöljük. Az adatok szerint a minták szervesanyag-tartalma 1,9–4,1%, az össz.-N értéke 0,093–0,209%, a vizes szuszpenzióban mért pH pedig 6,3–8,6 szélső határok között változik.

A talajok etil-alkoholos kivonatának kromatogramjait az 1. ábra szemlélteti.

Az ábrából mindenk előtt kitűnik, hogy mindegyik vizsgált minta tartalmazott szabad aminosavakat, s az alkalmazott eljárással a kivonatot 12–15 komponensre sikerült szétválasztani.

Szembevetendő továbbá, hogy aszparagint (5. sz. folt) csupán a réti talaj, arginint és fenilalanint (6. és 20. sz.) pedig csak réti és a réti szolonyec talaj kivonata tartalmazott mérhető mennyiségben. A többi (azonosított) aminosav valamennyi vizsgált mintában megtalálható szabad állapotban, de típuson-

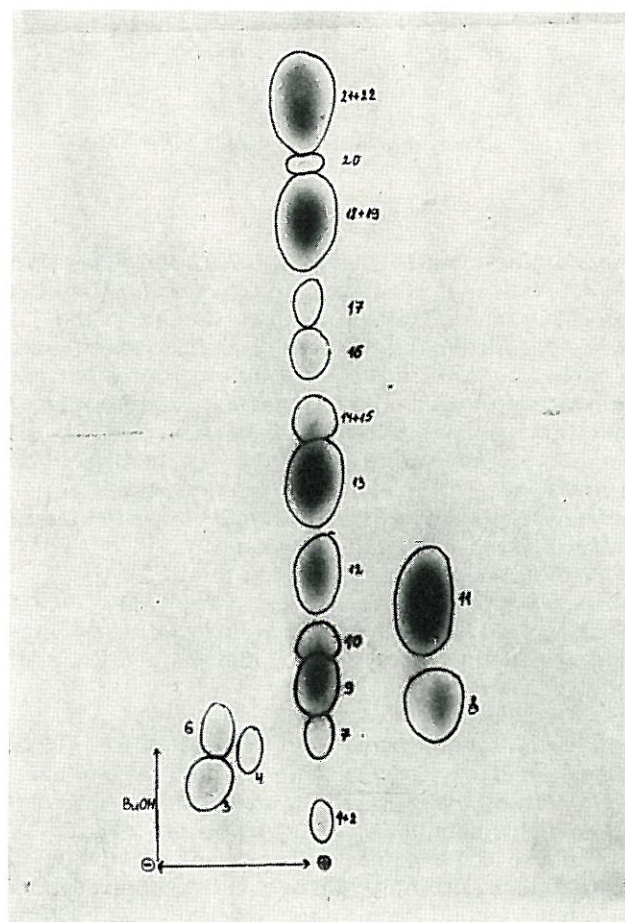


1. ábra

A talaj etil-alkoholos kivonatának papírkromatogramjai. R = Típusos réti talaj; Sz = Réti szolonyec talaj; RCs = Réti csernozjom; CsM = mészlepedékes csernozjom. I = a talaj felső szintje; II = felszín alatti rétege. St = Standard aminosavelegek

ként más-más mennyiségben. (Megemlítjük, hogy a réti talajban a cisztin + cisztein közelében erős liláskék elszíneződés mutatkozott, s emiatt e két aminosav mennyiségi értékelését nem tudtuk elvégezni).

Néhány esetben egy foltban két aminosav is jelentkezett. Ez elsősorban a bázikus aminosavak (lizin, hisztidin), valamint a savanyú monoamino-dikarbonsavak (aszparaginsav, glutaminsav) és amidjaik (aszparagin, glutamin) esetében nehezíti meg az értékelést. Annak igazolására, hogy a kérdéses foltok az említett aminosavak és amidok mindegyikét valóban tartalmazzák, a viszonylag gyors és egyszerű papírelektroforézises kromatográfiát használtuk. A módszer eredményességét a közepes réti szolonyec talaj, 11–40 cm-es rétegének kromatogramja is bizonyítja (2. ábra). Látható, hogy a savas (8. és 11. sz.) s a bázikus aminosavak (3., 4. és 6. sz. foltok) egyértelműen elkülönültek



2. ábra

A közepes réti szolonyec talaj szabad aminosavainak elválasztása elektroforézissel kombinált papírkromatográfiával. 3., 4., 6 = bázikus aminosavak; 8., 11. = savanyú aminosavak

1. táblázat

A vizsgált talajok általános jellemzői

(1) Talaj típusa, mintavétel helye	(2) Mélység, cm	pH (H ₂ O)	(3) Kötött- ségi szám (K _A)	y ₁	(4) Összes só	Na ₂ CO ₃	CaCO ₃	(5) Humusz	(6) Összes N
					%				
a) Típusos réti talaj, Bucsa	0—20	6,3	57	6,0	0,09	—	—	4,1	0,209
	20—45	7,1	73	2,2	0,11	—	—	2,8	0,122
b) Közepes réti szolo- nyec talaj, Bucsa	0—11	7,9	44	—	0,22	—	—	3,6	0,167
	11—40	8,6	57	—	0,67	0,06	ny	2,5	0,104
c) Karbonátos réti csernozjom, H.-szo- vát	0—20	8,0	36	—	0,02	—	1,4	3,0	0,147
	20—40	8,2	42	—	0,03	ny	7,5	2,4	0,125
d) Alföldi mészeledé- kes csernozjom talaj, H.-szoboszló	0—20	7,8	40	—	0,08	—	0,8	3,2	0,197
	20—45	8,2	43	—	0,05	ny	8,1	1,9	0,093

ny = nyomokban.

a neutrális monoamino-monokarbonsavaktól, s a kérdéses savak és savamidok mindegyike jelen van a kivonatban. (Az elektroforézissel kombinált módszerrel a szerin és a glicin foltja is minden esetben szétvált).

A szakaszos papírkromatográfiával végzett elválasztás időigénye egy-egy minta esetén jóval nagyobb, mint a papírelektroforézises változaté. Az egydimenziós papírkromatográfia alkalmazásakor azonban egy papíron 8 minta kivonatát lehet futtatni, papírelektroforézissel viszont egy papíron csak egy aminosav-elegyet vizsgálhatunk. Ezért sorozatanalízisekhez, véleményünk szerint, a papírkromatográfia előnyösebben használható.

Az ismertetett módszerekkel a talajból 18 szabad aminosavat és két savamidot tudtunk elválasztani, illetve azonosítani:

bázikus aminosavak; lizin, hisztidin, arginin,

savanyú aminosavak; aszparaginsav, glutaminsav,

neutrális aminosavak; cisztin + cisztein, szerin, glicin, treonin, alanin, prolin + tirozin, triptofán, γ -aminovajsav, metionin, valin, fenilalanin, leucin + (izoleucin),

neutrális savamidok; aszparagin, glutamin.

A szabad aminosavak mennyiségi adatait a 2. táblázat tartalmazza.

Az eredmények értékelésénél szem előtt kell tartani azt, hogy az aminosavak egy részét a talajkolloidok erősen adszorbeálhatják, így az alkalmazott oldószerrel valószínűleg nem lehet azokat kvantitatíve extrahálni. Emellett — amint azt idevonatkozó vizsgálatok bizonyítják — a kivonat kationcserélő oszlopon végzett sómentesítése folyamán további veszteségek lépnek fel. Ezért ilyen vizsgálatoknál a szabad aminosavak tényleges mennyisége helyett, mindig az adott módszerrel kivonható, illetve mérhető aminosavtartalmat kell érteni. Nem szabad figyelmen kívül hagyni azt sem, hogy a szabad aminosavak mennyiségét a talaj nedvességi állapota, hőmérséklete, a növények milyensége és fejlettségi állapota, az agrotechnika, stb. nagymértékben befolyásolják, s így

2. táblázat

A talajok szabad aminosavtartalma, mg/kg

(1) Aminosav megnevezése	(2) Típusos réti talaj		(3) Közepes réti szolonyec		(4) Karbonátos réti csernozjom		(5) Mészlepedékes csernozjom	
	0–20	20–45	0–11	11–40	0–20	20–40	0–20	20–45
Cisztin + (cisztein)	—	—	0,13	0,53	0,08	0,05	0,210	0,17
Lizin + hisztidin	0,51	0,36	0,13	0,24	0,03	0,016	0,016	0,01
Aszparagin	3,78	4,60	—	—	—	—	—	—
Arginin	0,47	0,66	0,82	2,83	ny	ny	—	—
Glutamin + aszparaginsav	0,75	0,97	2,96	3,15	0,22	0,15	0,26	0,15
Szerin + glicin	1,02	0,76	1,25	1,46	0,21	0,14	0,14	0,13
Glutaminsav	0,99	0,67	13,46	7,16	0,47	0,33	0,47	0,49
Treonin	0,32	0,29	1,16	0,90	0,11	0,095	0,095	0,13
Alanin	0,60	0,45	3,07	2,35	0,16	0,095	0,17	0,083
Prolin + triozin	0,63	0,49	0,89	1,06	0,27	0,15	0,15	0,27
Triptofán	0,49	0,71	0,39	0,51	0,22	0,65	0,16	0,22
γ -aminovajsav	0,23	0,11	0,39	0,17	0,04	0,27	0,04	0,07
Metionin + valin	0,52	0,38	2,44	2,44	0,15	0,17	0,2	0,19
Fenilalanin	0,57	0,71	1,31	1,19	—	—	—	—
Leucin + i.-leucin	0,74	0,56	3,35	3,99	0,18	0,12	0,14	0,16
Összes mennyiség	11,62	11,72	31,75	27,98	2,14	2,23	2,051	1,873

ez nem állandó érték, hanem a szervesanyag-bontás és -szintézis körülményeinek, a talaj mikrobiológiai tevékenységének függvényében változik.

A táblázat szerint a minták össz. szabad aminosavtartalma 1,9–31,8 mg/kg között volt. Legtöbb szabad aminosavat (31,75 mg/kg) a közepes réti szolonyec talajban, legkevesebbet pedig a csernozjom talajokban mértünk. A réti szolonyec szabad aminosavtartalma közel 3-szorosa a típusos rétiének, s csaknem 15-szöröse volt a csernozjom talajokénak. Eszerint azokban a talajokban, amelyekben az aerob viszonyok következtében erőteljesebb a mineralizáció, a szabad aminosavtartalom lényegesen kisebb.

A vizsgált talajok felszíni és felszín alatti rétegének összes szabad aminosav-készletében – a réti szolonyec kivételével – számottevő különbségeket nem találtunk, egyes aminosavak mennyisége azonban a két rétegben eltérő lehet. A réti szolonyec felső szintjében pl. mintegy 3-szor kevesebb arginint mértünk, mint a felszín alatti rétegekben, s ilyen tendencia mutatkozott a típusos réti talajnál is. A glutaminsav mennyisége viszont, mindkét típusnál, a felső rétegben lényegesen nagyobb. Figyelemre méltó továbbá, hogy a karbonátos réti csernozjom 20–30 cm-es rétegében kb. 3-szor annyi triptofán, s közel 7-szer annyi γ -aminovajsav volt, mint a 20–40 cm-es szintben. Más kutatók [17] egyes talajok mélyebb rétegeiben lényegesen kevesebb össz. aminosavat találtak, mint a felszínen; sőt 35–40 cm között a szabad aminosavak több tagja már nem volt kimutatható.

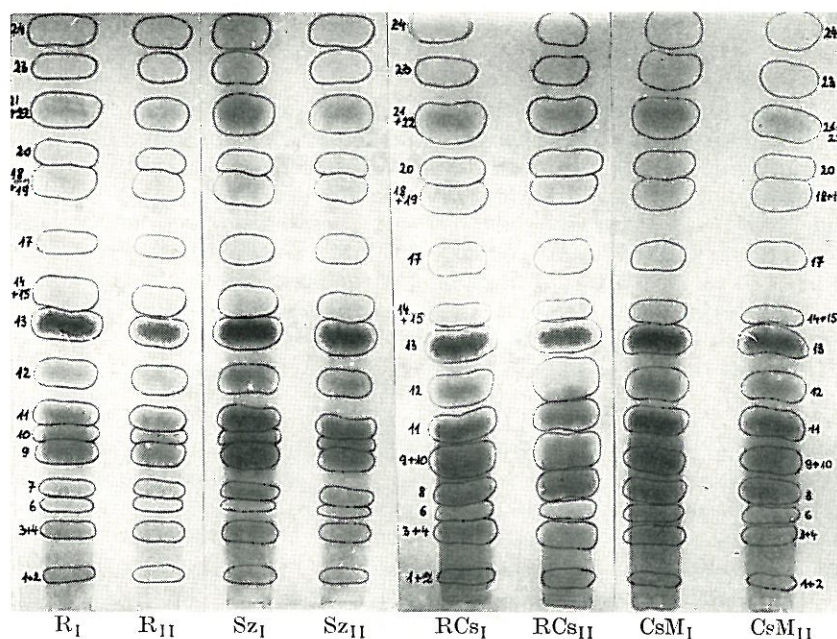
Mind számukat, mind össz. mennyiségüket tekintve, az általunk vizsgált talajokban, általában a neutrális aminosavak és savamidok voltak túlsúlyban. A réti szolonyec talaj felső szintjében azonban a savanyú dikarbonsavak mennyisége adódott a legnagyobbaknak (az össz. mennyiség csaknem 50%-a).

A talajhidrolizátum aminosav-összetételét a 3. ábra mutatja. Az ábrát az 1. ábrán közölt kromatogramokkal összehasonlítva szembetűnik, hogy ez esetben a leucin és izoleucin fölött két — nem azonosított — ninhidrinpozitív folt jelentkezett. A hidrolizátum kromatogramján ezen kívül sem triptofán, sem pedig a dikarbonsavak amidjai (aszparagin, glutamin) nem szerepelnek, mivel ezek a savas hidrolízis alatt elbomlanak. Ugyancsak bomlik, oxidálódik meleg sav hatására a cisztin és a metionin egy része is, s cisztinsav, illetve metionin-szulfoxid és metionin-szulfon jelenik meg a hidrolizátumban [7]. Ezek szerint a két ismeretlen folt az aminosavak oxidációs termékeinek tekinthető.

A hidrolizált minták aminosavainak mennyiségi megoszlását a 3. táblázatban közöljük.

A kromatogramok és a táblázat áttekintéséből kitűnik, hogy az aminosavak minőségi összetételében nem volt különbség az egyes talajtípusok és talajrétegek között, egyenkénti és összes mennyiségükben azonban számottevő eltéréseket találtunk.

A hidrolizált minták összes aminosavtartalma — a meleg sav hatására bekövetkezett bizonyos mértékű bomlás ellenére — a réti és a réti szolonyec talajoknál mintegy 20–70-szerese, a csernozjomoknál pedig 210–360-szorosa a szabad aminosavak mennyiségének. A fenti arányok megerősítik azt a megfigyelést, mely szerint aerob feltételek, s kedvező kémiai és biokémiai körül-



3. ábra

A talajhidrolizátumok aminosav-kromatogramja. R = Típusos réti talaj; Sz = Réti szolonyec; RCs = réti csernozjom; CsM = mészlepedékes csernozjom. I = a talaj felső szintje; II = felszín alatti rétege

21 + 22. Leucin + l-leucin
20. Fenilalanin
18 + 19. Metionin + valin
17. γ -aminovajsav

14 + 15. Prolin + tirozin
13. Alanin
12. Treonin
11. Glutaminsav

9 + 10. Szerin + glicin
8. Aszparaginsav
6. Arginin
3 + 4. Lizin + hisztidin
1 + 2. Cisztin + cisztein

3. táblázat

A talajhidrolizátumok aminosav-összetétele, mg/kg talaj

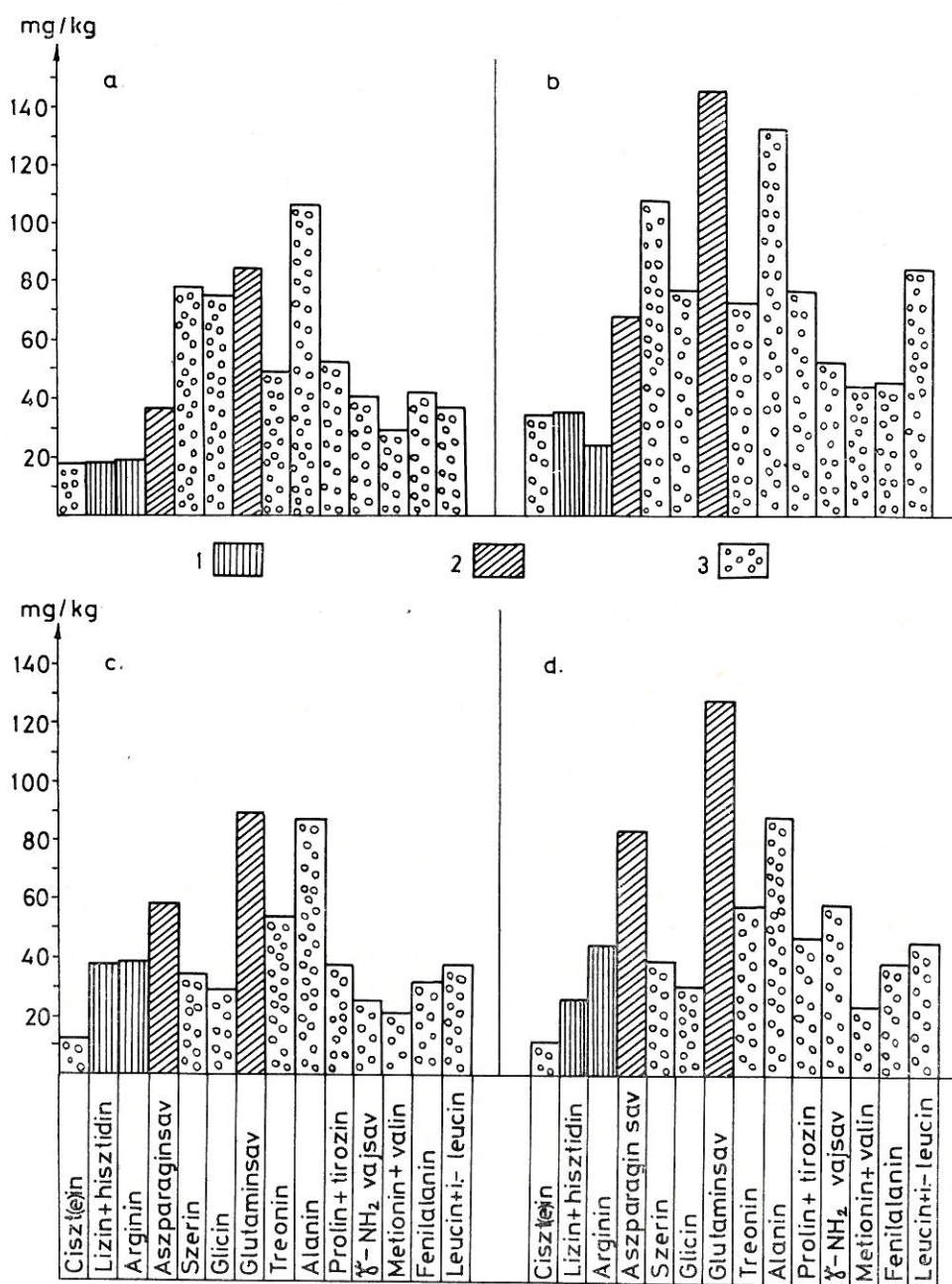
(1) Aminosav megnevezése	(2) Típusos réti talaj		(3) Közepes réti szolonyec		(4) Karbonátos réti csernozjom		(5) Mészlepedékes csernozjom	
	0–20	20–45	0–11	11–40	0–20	20–40	0–20	20–45
	cm							
Cisztin + cisz- tein	18,4	11,8	35,2	21,8	12,5	10,0	12,5	6,3
Lizin + hisztidin	18,7	10,9	35,8	20,2	38,6	26,9	26,9	14,0
Arginin	18,8	7,4	24,1	16,7	39,0	19,5	46,0	22,2
Aszparaginsav	36,9	25,5	68,0	39,7	59,6	91,4	85,1	54,2
Szerin + Glicin	{79,5+ 75,8}	{41,5+ 36,8}	{109,6+ 76,7}	{59,9+ 57,5}	{36,0+ 29,5}	{28,7+ 20,0}	{39,6+ 33,4}	{22,5+ 15,3}
Glutaminsav	84,5	43,9	146,0	81,5	90,6	82,4	128,3	63,5
Treonin	49,5	27,9	72,4	36,8	55,2	44,7	58,2	30,5
Alanin	107,2	53,0	132,8	81,6	88,4	64,2	89,7	44,0
Prolin + tirozin	52,2	32,8	77,1	44,4	39,1	23,2	47,8	26,1
γ -aminovajsav	41,7	28,5	52,5	46,1	26,4	33,8	59,4	34,6
Metionin + valin	29,4	17,6	44,1	30,8	22,1	17,7	24,3	18,8
Fenilalanin	42,1	29,9	45,6	35,1	33,0	27,7	39,6	22,4
Leucin + i.- leucin	37,7	23,7	85,1	46,0	39,8	28,3	46,1	27,3
Összes menny- nyiség	692,4	391,2	1005,1	614,1	608,8	518,5	736,9	401,7

mények között a szabad aminosavak képződése jelentősen visszaszorul. A vizsgált mészlepedékes csernozjom talaj hidrolizálható aminosavtartalmát pl. nagyobbban találtuk, mint a réti talajét, a szabad aminosavak mennyisége viszont az előbbi talajban a legkevesebb. A hidrolizátum „összes” aminosav-készlete – mindegyik talajnál – a felső szintben a legnagyobb, s a mélységgel számottevően csökken. A legnagyobb mértékű számszerű változást a réti szolonyecnél, a legkevesebbet a karbonátos réti csernozjom talajnál észleltünk. A felső talajréteg aminosavtartalmához viszonyított %-os csökkenés viszont a mészlepedékes csernozjomnál és a típusos réti talajnál volt a legkifejezettebb.

A vizsgált aminosavak közül általában az alanin, a glutaminsav, a szerin + glicin és a treonin szerepelt a legnagyobb mennyiségben. A csernozjomokban ezen kívül meglehetősen sok aszparaginsav, a réti szolonyec talajnál pedig számottevő leucin + (i.-leucin) is mutatkozott. Legtöbb esetben az aminosavak egyenkénti mennyisége is csökkent a talaj mélyebb rétegében (csupán a réti csernozjom aszparaginsav és γ -aminovajsav tartalmában találtunk ellenkező arányokat).

A talajok felső rétegének aminosav-összetételében mutatkozó különbségek szemléltetésére a 4. ábra szolgál. Az ábrán kifejezésre jutnak egyrészt a különböző aminosavak típusonkénti értékei, másrészt – az oszlopok összterületét összehasonlítva – az összes aminosav-tartalomban tapasztalt eltérések.

Az ismertetett eredményeket összegezve megállapítható, hogy a fenti talajok szabad aminosav-összetételében nemcsak mennyiségi, hanem minőségi különbségek is mutatkoztak, a hidrolizátum aminosavspektruma viszont, a



4. ábra

A hidrolizált felszíni talajrétegek aminosavtartalma. 1: bázikus; 2: savanyú; 3: neutrális aminosavak. a) Réti talaj; b) Réti szolonyec; c) Réti csernozjom; d) Mészlepedékes csernozjom

típustól függetlenül, azonos komponensekből áll, s a csupán mennyiségi eltéréseket találtunk. A szabad aminosavak, a talaj összes aminosavtartalmához képest általában igen kis mennyiségben fordultak elő. Mind az etil-alkoholos kivonatban, mind a hidrolizátumban kimutattuk a fontosabb fehérjealkotó aminosavakat. A nem fehérje alkotó aminosavak közül pedig, mindkét kivonatban figyelemre méltó értékkel szerepelt a γ -aminovajsav.

Összefoglalás

Néhány talajtípus — réti talaj, közepes réti szolonyec, karbonátos réti csernozjom és alföldi mészlepedékes csernozjom — két felső rétegének aminosavtartalmát vizsgáltuk. A szabad aminosavakat 20%-os etil-alkohollal extraháltuk, a talajminták hidrolízisét pedig 6 N HCl-dal végeztük 60 °C-on. A kivonatokat Dowex-50 kationcserélő műgyantán sómentesítettük, majd papírkromatográfiával szétválasztottuk az aminosavakat. A mennyiségi értékelés megfelelő aminosavstandardok felhasználásával, fotometrálassal történt.

Mind az etil-alkoholos kivonatban, mind a hidrolizátumban kimutattuk a fontosabb fehérjealkotó aminosavakat, a nem fehérje alkotó aminosavak közül pedig a γ -aminovajsavat.

A talajok össz. szabad aminosavtartalma 1,9—31,8 mg/kg között változott, s legtöbbet a közepes réti szolonyecben, legkevesebbet a mészlepedékes csernozjom talajban találtunk. A szabad aminosavak túlnyomó részét általában a neutrális aminosavak adták, a réti szolonyec talaj felső szintjében azonban a savanyú dikarbonsavak mennyisége volt a legnagyobb. A vizsgált minták szabad aminosavtartalma nemcsak mennyiségileg, hanem minőségi összetételében is különbséget mutatott. Aszparagint pl. csupán a réti talajban, arginint és fenilalanint pedig csak a réti és a réti szolonyec talajban találtunk. A kiválasztott talajok felszíni és felszín alatti rétegének össz. szabad aminosavtartalma — a réti szolonyec kivételével — közel azonosnak adódott, az egyes aminosavak mennyisége azonban a két rétegben eltérő volt.

A talaj-hidrolizátumban — a savamidok és egyes aminosavak bomlása miatt — 16 komponenst tudtunk azonosítani. A hidrolizátum összes aminosavtartalma a réti és a réti szolonyec talajoknál mintegy 20—70-szerese, a csernozjomoknál pedig 215—360-szorosa volt a szabad aminosavak mennyiségének. A fenti arányok is arra utalnak, hogy aerob körülmények között a szabad aminosavak képződési feltételei korlátozottak. A hidrolizált minták aminosav-összetételében minőségi különbségeket nem észleltünk (a talajtípustól függetlenül azonos komponensek szerepeltek), az aminosavak mennyiségében viszont kifejezett eltérések mutatkoztak.

A hidrolizátumok összes aminosavtartalma mindegyik vizsgált talajnál a felszíni rétegben volt a legnagyobb, s a mélységgel jelentősen csökkent. Az azonosított aminosavak közül általában az alanin, a glutaminsav, a szerin + glicin és a treonin szerepelt legnagyobb mennyiségben. A csernozjomokban ezen kívül tekintélyes mennyiségű aszparaginsav, a réti szolonyec talajban pedig számottevő leucin és i.-leucin is jelentkezett.

Irodalom

- [1] BREMNER, J. M.: The amino-acid composition of soil organic matter. *Biochem. J.* **47**. 538—542. 1950.
- [2] DAVIDSON, D. J., SOWDEN, F. J. & ATKINSON, H. J.: Application of paper chromatography to identification and quantitative estimation of amino-acids in soil organic matter fractions. *Soil Sci.* **71**. 347—352. 1951.
- [3] FILEP, GY. & BUKAI, J.-né: Nitrogén-ellátottság hatása a burgonyagumó kémiai összetételére, szabad aminosav- és fehérjetartalmára. *Növénytermelés*. **18**. 23—32. 1969.
- [4] GILBERT, R. G. & ALTMAN, J.: Ethanol extraction of free amino-acids from soil. *Plant and Soil*. **24**. 229—238. 1966.
- [5] GROV, A.: Amino-acids in soil. II. *Acta Chem. Scand.* **17**. 2319—2324. 1963.
- [6] GROV, A. & ALVSAKER, E.: Amino-acids in soil. I. *Acta Chem. Scand.* **17**. 2307—2315. 1963.
- [7] MCLAREN, A. D. & PETERSON, G. H.: *Soil Biochemistry*. Dekker. New York. 1967.
- [8] MAZUR, T. & SZMIRNOV, P. M.: Primenenie metoda bumazsnoj hromatografii dlja izucsenija pravrasenija szvobodnüh aminokislot v pocseve. *Dokl. TSzHA*. **84**. 1963.
- [9] PARKER, D. J., SOWDEN, F. J. & ATKINSON, H. J.: The nitrogen distribution and amino-acid content of certain soil organic matter fractions. *Sci. Agric.* **32**. 163—169. 1952.
- [10] PAUL, E. A. & SCHMIDT, E. L.: Extraction of free amino-acid from soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **24**. 195—198. 1960.
- [11] PAUL, E. A. & SCHMIDT, E. L.: Formation of free amino-acids in rhizosphere and nonrhizosphere soil. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **25**. 359—362. 1961.
- [12] PAVEL, L., KOLOUSEK, J. & SMATLÁK, V.: Príspevek k poznání huminových látek. II. *Sborn. Čsl. Akad. Zemed. Ved.* **27A**. 207—212. 1959.
- [13] SINGH, S. & BHANDRI, G. S.: A study on the amino compounds in acid hydrolysates and aqueous leachates of some soil of Rajasthan. *J. Ind. Soc. Soil Sci.* **11**. 1. 1963.
- [14] SOWDEN, F. J.: Effect of hydrolysis and iron and aluminium removal on the determination of amino-acid compounds in soil. *Soil Sci.* **107**. 364—371. 1969.
- [15] SOWDEN, F. J. & IVARSON, K. C.: The „free” amino-acids of soil. *Can. J. Soil Sci.* **46**. 109—114. 1966.
- [16] STEVENSON, F. J.: Ion exchange chromatography of the amino acids in soil hydrolysates. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* **18**. 373—377. 1954.
- [17] UMAROV, M. M. & ASZEJEVA, J. V.: Szvobodnű aminokiszlottű nektortűh pocsv SSSR. *Pocsvovedenie*. (10) 108—111. 1971.

Érkezett: 1974. február 10.

Amino Acid Composition of Organic Matter in Some Soils

GY. FILEP and L. TATÁR

University of Agricultural Sciences, Debrecen and Agrochemical Research Institute, Nyíregyháza (Hungary)

Summary

The amino acid contents of the two upper layers of several soil types (meadow soil, medium meadow solonetz, calcareous meadow chernozem and mycelial (calcareous) chernozem) were studied. The free amino acids were extracted with 20 p.c. ethyl alcohol, and the hydrolysis of the soil samples was carried out with 6 N HCl. The salts were removed from the extracts with the aid of Dowex-50 cation exchange synthetic resin; the amino acids were separated by paper chromatography and by paper chromatography combined with paper electrophoresis, resp. The quantitative evaluation was made by photometric methods, using the corresponding amino acid standards.

The main protein-building amino acids and, from among the amino acids not incorporating into the proteins, the γ -amino butyric acid were detected, both in the ethyl alcoholic extract and in the hydrolyzate.

The total free amino acid content of the soils varied between 1.9 and 31.8 mg/kg; it was the highest in the medium meadow solonetz and the lowest in the mycelial chernozem soil. In general most of the free amino acids found were neutral but in the upper layer of the meadow solonetz soil the dicarbonic acids with acidic properties dominated. The amino acid composition of the studied soil samples showed qualitative differences, too. Only the meadow soil contained asparagine, while arginine and phenyl-alanine were found only in meadow soil and meadow solonetz. As regards the distribution of amino acids within the two upper layers of the studied soils, the total free amino acid contents were about the same — except in the meadow solonetz — but the amounts of the various amino acids were different.

In the soil hydrolyzate 16 components could be identified because of the decomposition of the acid amides and certain amino acids. In meadow soil and meadow solonetz the total amount of amino acids was found to be about 20–70 times and in chernozems 215–360 times higher than that of free amino acids. These ratios also indicate that the formation of free amino acids is limited under aerobic conditions. No qualitative differences were detected in the amino acid composition of the hydrolyzed samples of the various soil types but the quantities of the amino acids showed considerable deviations.

The total amino acid content was found to be always the highest in the hydrolyzate of the upper layer and it decreased considerably with depth. From among the identified amino acids alanine, glutamic acid, serine + glycine and threonine were present in the highest amounts. The chernozems contained considerable amounts of aspartic acid as well, while in meadow solonetz soils large quantities of leucine and isoleucine were also present.

Table 1. General characteristics of the soils studied. (1) Soil type, sampling place: a) typical meadow soil, Bucsá; b) medium meadow solonetz soil, Bucsá; c) calcareous meadow chernozem, Hajdúszóvát; d) mycelial (calcareous) chernozem, Hajdúszoboszló. (2) Sampling depth. (3) Consistency value according to Arany. (4) Total salt content. (5) Humus content. (6) Total N content.

Table 2. Free amino acid content of the soils, mg/kg. (1) Amino acids. (2) Typical meadow soil. (3) Medium meadow solonetz soil. (4) Calcareous meadow chernozem. (5) Mycelial (calcareous) chernozem.

Table 3. Amino acid composition of soil hydrolyzates, mg/kg. soil. (1)–(5): see Table 2.

Fig. 1. Paper chromatograms of the ethylalcoholic soil extracts. R = typical meadow soil. Sz = meadow solonetz. RCs = meadow chernozem. CsM = mycelial (calcareous) chernozem. I = upper soil layer. II = soil layer beneath the surface. St = standard amino acid mixtures.

Fig. 2. Separation of free amino acids in a medium meadow solonetz soil by paper-chromatography combined with electrophoresis. 3, 4, 6 — basic amino acids. 8, 11 = acidic amino acids.

Fig. 3. Amino acid chromatograms of soil hydrolyzates. Legends: see Fig. 1.

Fig. 4. Amino acid content of the hydrolyzed upper soil layers. Soil types a)–d): see Table 1. 1: Basic, 2: acidic, 3: neutral amino acids.

Aminosäurezusammensetzung der organischen Substanz in einigen Böden

GY. FILEP und L. TATÁR

Universität der Agrarwissenschaften zu Debrecen und Agrochemisches Forschungsinstitut, Nyíregyháza (Ungarn)

Zusammenfassung

Der Aminosäuregehalt der oberen zwei Schichten von einigen Bodentypen (Wiesenboden, mittelmässiger Wiesenolonetzboden, karbonathaltiger Wiesenschernosemboden, tiefländischer Tschernosemboden mit Kalkhüllen) wurde untersucht. Die freien Aminosäuren wurden mit 20%igem Äthylalkohol extrahiert, die Hydrolyse der Bodenproben wurde mit 6 N HCl bei 60 °C durchgeführt. Die Entsalzung der Extrakte erfolgte durch Anwendung von dem Kationenaustauscher »Dowex-50«. Die Aminosäuren wurden dann mit Hilfe von Papierchromatographie, bzw. von mit Elektrophorese kombinierter

Papierchromatographie getrennt. Die quantitative Auswertung erfolgte durch Photometrie mit Anwendung von Aminosäurestandardlösungen.

So im Äthylalkohol-Extrakt, wie auch im Hydrolysat wurden die wichtigsten eiweissbildenden Aminosäuren und die in der Eiweissbindung nicht teilnehmende γ -Aminobuttersäure nachgewiesen.

Der gesamte freie Aminosäuregehalt der Böden lag zwischen 1,9–31,8 mg/kg, die grösste Menge wurde in dem mittelmässigen Wiesensolonetzboden, die geringste in dem Tschernosemboden mit Kalkhüllen vorgefunden. Den grössten Anteil der freien Aminosäuren bildeten die neutralen Aminosäuren, nur in der obersten Schicht des Wiesensolonetzbodens überwogen die saueren Dikarbonsäuren. Der freie Aminosäuregehalt der untersuchten Proben war nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ unterschiedlich. Asparagin konnte z. B. nur im Wiesenboden, Arginin und Phenylalanin nur im Wiesen- und Wiesensolonetzboden nachgewiesen werden. Die gesamte Menge der freien Aminosäuren war in der obersten und der unmittelbar darunter liegenden Schicht in den untersuchten Böden — mit Ausnahme des Wiesensolonetzbodens — fast gleich gross, die Menge der einzelnen Aminosäuren war aber in den zwei untersuchten Schichten verschieden.

In den Bodenhydrolysaten konnten wegen der Zersetzung der Amide und einiger Aminosäuren nur 16 Komponenten identifiziert werden. Der gesamte Aminosäuregehalt des Hydrolysats betrug im Falle der Wiesen- und Wiesensolonetzböden das 20–70fache, im Falle der Tschernosjomböden das 215–360fache der Menge der freien Aminosäuren. Dieses Verhältnis weist auch darauf hin, dass unter aeroben Verhältnissen die Bildung von freien Aminosäuren beschränkt ist. In der Aminosäurezusammensetzung der Hydrolysate zeigte sich kein qualitativer Unterschied (dieselben Komponenten konnten unabhängig vom Bodentyp nachgewiesen werden), die quantitative Verteilung der Aminosäuren war aber deutlich unterschiedlich.

Der gesamte Aminosäuregehalt der Hydrolysate war in der obersten Schicht der grösste und nahm mit der Tiefe ab. In bedeutendster Menge kamen Alanin, Glutaminsäure, Serin + Glycin und Threonin vor. In den Tschernosjomböden konnte ausserdem noch eine ansehnliche Menge Asparaginsäure, und in dem Wiesensolonetzboden viel Leucin und Isoleucin nachgewiesen werden.

Tab. 1. Allgemeine Angaben der untersuchten Böden. (1) Bodentyp, Ort der Probenahme: a) typischer Wiesenboden, Bucsa; b) mittelmässiger Wiesensolonetzboden, Bucsa; c) karbonathaltiger Wiesentschernosemboden, Hajdúszóvár; d) tiefländischer Tschernosemboden mit Kalkhüllen, Hajdúszoboszló. (2) Tiefe der Probenahme. (3) Bindigkeitszahl nach Arany. (4) Gesamter Salzgehalt. (5) Humus. (6) Gesamter N.

Tab. 2. Freier Aminosäuregehalt der Böden, mg/kg. (1) Benennung der Aminosäure. (2) Typischer Wiesenboden. (3) Mittelmässiger Wiesensolonetzboden. (4) Karbonathaltiger Wiesentschernosemboden. (5) Tschernosemboden mit Kalkhüllen.

Tab. 3. Aminosäurezusammensetzung des Bodenhydrolysates, mg/kg Boden. Bezeichnungen s. Tab. 2.

Abb. 1. Papierchromatogramme des Äthylalkohol-Bodenextraktes. R = typischer Wiesenboden. Sz = Wiesensolonetzboden. RCs = Wiesentschernosemboden. CsM = Tschernosem mit Kalkhüllen. I = Ackerkrume. II = oberflächennaher Bodenschicht. St = standard Aminosäuremischungen.

Abb. 2. Trennung der freien Aminosäuren des mittelmässigen Wiesensolonetzbodens mit Elektrophorese kombinierter Papierchromatographie. 3., 4., 6 = basische Aminosäuren. 8., 11. = saure Aminosäuren.

Abb. 3. Aminosäure-Chromatogramme der Bodenhydrolysate. Bezeichnungen s. Abb. 1.

Abb. 4. Aminosäuregehalt der hydrolysierten obersten Bodenschichten. Bodentyp a)–d) s. Tab. 1. 1: Basische, 2: saure, 3: neutrale Aminosäuren.

Состав аминокислот органического вещества некоторых почв

ДБ. ФИЛЭП и Л. ТАТАР

Аграрный Университет, Дебрецен и Научно-исследовательский институт агрохимии,
Ниредьхаза (Венгрия)

Резюме

Изучали содержание аминокислот в двух верхних горизонтах луговой почвы, среднего лугового солонца, карбонатного лугового чернозема и мицелярного чернозема. Свободные аминокислоты экстрагировали 20%-ым этиловым спиртом, а гидролиз почвенных образцов проводили 6. н. HCl при температуре 60°C. Соли из вытяжки удаляли на катионнообменной синтетической смоле Dowex-50, затем аминокислоты разделяли бумажной хроматографией или при комбинации бумажной хроматографии с бумажным электрофорезом. Количественная оценка проводилась с помощью соответствующих стандартов аминокислот.

В вытяжках этиловым спиртом и в гидролизатах обнаружили важнейшие аминокислоты составляющие белки, а из небелковых аминокислот — γ — аминomásляную кислоту.

Содержание свободных аминокислот в почве составляло 1,9—31,8 мг/кг, самое большое количество их отмечалось в среднем луговом солонце, самое незначительное — в мицелярном черноземе. Большую часть свободных аминокислот составляют нейтральные аминокислоты, хотя в верхнем горизонте лугового солонца встречается самое большое количество кислых дикарбоновых кислот. Свободные аминокислоты в почве отличаются не только по своему количеству, но и по качеству. Например, аспарагин встречается только в луговой почве и луговом солонце. Содержание суммы свободных аминокислот в поверхностных и подповерхностных слоях почвы было почти одинаковым для всех почв — за исключением лугового солонца, а содержание отдельных аминокислот в этих слоях было различным.

В почвенном гидролизате — из-за разложения амидов и некоторых аминокислот — могли определить только 16 компонентов. Общее содержание аминокислот в гидролизате из луговых почв и луговых солонцов было в 23—27 раз больше, а из черноземов в 215—360 раз больше по сравнению с содержанием свободных аминокислот. Вышеуказанные соотношения указывают и на то, что в аэробных условиях образование свободных аминокислот ограничено. Аминокислоты в гидролизате качественно не отличались друг от друга (независимо от почвенного типа встречались одинаковые компоненты), зато в количественном отношении наблюдали значительные различия.

Общее содержание аминокислот в гидролизате во всех случаях было больше в верхних слоях почвы, с глубиной количество их снижалось.

Из аминокислот в наибольшем количестве встречаются аланин, глютаминовая кислота, серин + глицин и треонин. В черноземах кроме этих аминокислот в значительном количестве находится аспарагиновая кислота, в луговом солонце — лейцин и изолейцин.

Табл. 1. Общая характеристика изученных почв. (1) Тип почвы, место взятия образцов: а) Типичная луговая почва, Буча. б) Средний луговой солонец, Буча. в) Карбонатный луговой чернозем, Хайдусоват. г) Алфёльдский мицелярный чернозем, Хайдусобосло. (2) Глубина взятия образцов. (3) Число связности по Арань. (4) Сумма солей. (5) Гумус (6) Общий азот.

Табл. 2. Содержание свободных аминокислот в почвах, мг/кг. (1) Название аминокислоты. (2) Типичная луговая почва. (3) Средний луговой солонец. (4) Карбонатный луговой чернозем. (5) Мицелярный чернозем.

Табл. 3. Состав аминокислот в гидролизате из почвы мг/кг почвы. 1) Название аминокислоты. 2. Типичная луговая почва. 3) Средний луговой солонец. 4) Карбонатный луговой чернозем. 5) Мицелярный чернозем.

Рис. 1. Бумажные хроматограммы спиртовых вытяжек из почвы. R = типичная луговая почва. Sz = луговой солонец. RC_S-луговой чернозем. C_SM = мицелярный чернозем. I = верхний горизонт почвы. II = подпочвенный слой. St = стандартные растворы аминокислот.

Рис. 2. Выделение свободных аминокислот из среднего лугового солонца электрофорезом в комбинации с бумажной хроматографией. 3., 4., 6. = основные аминокислоты. 8., 11. = аминокислоты.

Рис. 3. Хроматограммы аминокислот гидролизатов почвы. R = типичная луговая

почва. Sz = луговой солонец. RCs = луговой чернозем. CsM = мицелярный чернозем. I = верхний горизонт почвы. II = подпочвенный слой. St = стандартные растворы аминокислот.

Рис. 4. Содержание аминокислот в гидролизате из верхнего горизонта почвы. Почвенные типы: а) Типичная луговая почва, Буча. б) Средний луговой солонец, Буча. в) Карбонатный луговой чернозем, Хайдусоват. д) Алфельдский мицелярный чернозем, Хайдусобосло. 1: основные. 2: кислые. 3. нейтральные аминокислоты.